

АТИПИЧНЫЕ ШТАММЫ ВЫДЕЛЕННЫЕ ПРИ ГНОЙНОМ СРЕДНЕМ ОТИТЕ У ДЕТЕЙ

Атаходжаева Д.Р.,

Ташкентский педиатрический медицинский институт.

✓ Резюме

Выявлено изменчивость бактерий, вызывающие острый и хронический средний отит под воздействием различных факторов, в том числе и антибиотиков. Отмечено, что при длительном пассаже в соответствующих питательных средах и нормальных для них условиях атипичные штаммы могут реверсироваться в исходную форму, с восстановлением биологические свойства характерные для них. Выявлено, что атипичные штаммы играют большой роль в хронизации БВЗ и в измененной форме они могут длительно персистироваться в клетках организма и в удобных для них условиях они реверсируются в исходную форму и становится причиной обострения процесса.

Ключевые слова: отит, острый, гнойный, культуры, антибиотики, атипичные.

ЎРТА ҚУЛОҚ ЙИРИНГЛИ ЯЛЛИЁЛАНИШИДА АНИҚЛАНГАН АТИПИК ШТАММЛАР

Атаходжаева Д.Р.,

Тошкент педиатрия тиббиёт институти.

✓ Резюме

Ўрта қулоқда ўткир ва сурункали йирингли яллиғланиш чақирган бактерияларда ҳар хил омиллар, шу жумладан антибиотиклар таъсирида ўзгарувчанлик содир бўлганлиги аниқланган. Бу бактерияларни улар ёқтирган озиқ муҳитларида узок вақт экилган муҳитларида қайта-қайта (30-40 марта) экиб турилса, яъни пассаж қилинса уларнинг ўзини аввалги ҳолига қайтиши, биологик ва бошқа хоссаларини тикланиши аниқланган. Ўзига ҳос хоссалари ўзгарган бактерияларнинг касалликни сурункали шаклга ўтишида муҳим ўрни борлиги ва ўзгарган шаклда узок муддат организмни ҳужайраларида сузиб юриши ва қулай шароит туғилганида яна ўзининг асл ҳолатига қайтиб, касалликни қайталанишига сабаб бўлиши аниқланган.

Калит сўзлари: отит, ўткир, йирингли, культура, антибиотиклар, ўзгарган.

ATYPICAL STRAINS ISOLATED IN PURULENT MEANODUS OTITA IN CHILDREN

Atakhodzhaeva D.R.,

Tashkent Pediatric Medical Institute.

✓ Resume

The variability of the bacteria causing acute and chronic otitis media under the influence of various factors, including antibiotics, was revealed. It is noted that during prolonged passage in appropriate nutrient media and conditions normal for them, atypical strains can be reversed to their original form, with the restoration of the biological properties' characteristic of them.

It was revealed that atypical strains play a large role in the chronicity of BVZ and in an altered form they can persist for a long time in the cells of the body and, under conditions convenient for them, they are reversed to their original form and cause an exacerbation of the process.

Key words: otitis media, acute, pyogenic, cultures, antibiotics, atypical.

Актуальность

Одной из причин в основе изменения клинического течения БВЗ, наблюдающегося в последние годы является изменчивость микроорганизмов, поскольку бактерии и вирусы эволюционируют, как и вся живая природа, только более стремительными темпами (8,9). Под действием техногенных факторов меняется характер взаимодействия микроорганизмов с организмом человека, что выражается вовлечением в круг патогенов все новых представителей мира микробов [21,25]. Это выражается не только в появлении известных возбудителей (БВЗ) с новыми свойствами, в первую очередь условно-патогенными микроорганизмами, но и в массовом распространении среди них устойчивости к лекарственным препаратам. Чаше встречается длительная персистенция патогенов, обуславливающая стерые

формы БВЗ, уровень которых значительно превышает острые формы заболевания [31,34].

Появление микроорганизмов с измененными свойствами, как правило, приводит к распространению или "возвращению" инфекции, в связи с чем, возникают затруднение в диагностике, лечении и профилактики, что неминуемо приводит к росту заболеваемости и летальности. Клинически новая или возвращающаяся инфекция часто проявляет себя атипично, при этом патологический процесс может протекать как маломанифестно, так и чрезвычайно остро с развитием осложнений, угрожающих жизни.

По мере адаптации микробов к антибиотикам меняется антигенная структура циркулирующих штаммов, возникают принципиально новые формы и мутантные штаммы микробов (Л-формы, сферопласти и протопласти) с неполным набором белков и ферментов. Кроме того, рост так называемых "возвраща-

ющихся" инфекций и изменение клинического течения ряда БВЗ в значительной степени обусловлен появлением большого количества микробов, резистентным к существующим антибиотикам [38].

В результате эволюции патогенов происходят следующие важнейшие события: 1. Адаптация патогенов к меняющимся условиям окружающей среды; 2. Формирование высоковирулентных штаммов; 3. Формирование лекарственной устойчивости патогенов; 4. Изменение патогенных свойств и диагностически значимых признаков у возбудителей бактериальных и вирусных инфекций; 5. Указанные и другие эволюционные события определяют большое генетическое разнообразие возбудителей.

Сегодня уже доказано, что атипичные бактерии играют большую роль в инфекциях дыхательных путей [172]. В частности установлено, что значительная часть случаев острой и не стрептококковый фарингит связана с микоплазменной инфекцией, острого бронхита, не госпитальные пневмонии, и хламидийной инфекцией.

Атипичные возбудители обнаруживаются практически у 39,7 - 61,3% больных с воспалительными процессами (ВП), в том числе и у госпитализированных; смешанные инфекции встречаются у 47,8% пациентов. Частота встречаемости атипичных возбудителей, следующая: хламидийная пневмония - в 18,2% случаев, легионеллезная - в 0,9-13,5% случаев, наиболее часто встречающейся патоген - микоплазменная пневмония - в 17,3-39,1%. Идентифицировать инфекционный агент, вызвавший ВП, можно лишь в 42,0-49,9% случаев. Инфекция, вызванная атипичными возбудителями, выявлена у 145 пациентов (55,3%) и у 8 детей контрольной группы (3,8%, $p \leq 0,0001$). При этом в группе детей старше 3 лет атипичные инфекции наблюдались чаще (61,9%)

по сравнению с детьми более раннего возраста (43,9%, $p \leq 0,0001$) [134,150,151].

Таким образом, вышеперечисленные данные свидетельствуют об актуальности проблемы изучения атипичных штаммов возбудителей при различных гнойно-воспалительных процессах, особенно среди детей в разных возрастах.

С учетом вышеизложенного нашей целью являлось изучить атипичных штаммов, выделенных при гнойных средних отитах у детей.

Материал и методы

Объектами исследования являлись 262 больных детей, госпитализированных в отделении ЛОР заболевании клиники Ташкентского педиатрического медицинского института с диагнозом острого и хронического среднего отита (ОГСО и ХГСО). Работа выполнялась в бактериологической лаборатории клиники и в кафедре микробиологии института. При воспалительных заболеваниях среднего уха исследовали гнойное, или серозное отделяемое.

Полученные патологические материалы изучали бактериоскопическими и бактериологическими методами. При бактериоскопическом методе из патологического материала и из выделенных культур приготовили мазки, окрашивали по Грамму и смотрели под микроскопом. При бактериологическом исследовании исследуемый материал засеивали на питательные среды. Так как острые и хронические гнойные отиты вызываются разными микроорганизмами, патологический материал посеяли на различные питательные среды (в том числе в 5% кровяной среде, которого инкубировали в атмосфере CO₂ в эксикаторе со свечой) с учетом разновидностей бактерий и инкубировали в термостате при 37°C, Ph 7,2-7,6 в течение 24 часов (Таблица 1).

Таблица 1.

Питательные среды и условия культивирования посевов

Питательные среды	Условия культивирования	Группы исследуемых микроорганизмов
Среда Блаурокка	Анаэробные (в анаэроостате)	Бактероиды, Пептококки, Пептострептококки
КАБ (кровяной среда для бактериоидов)	Анаэробные (в анаэроостате)	Бактероиды
5% кровяной среда	Аэробные	Гемолитические варианты энтеробактерий, стрептококки, стафилококки
Молочно-солевой среда	Аэробные	Стафилококки
Желточно-солевой агар	Аэробные	Стафилококки
Среда Эндо	Аэробные	Энтеробактерии
Среда Сабура	Аэробные и микроаэрофилные	Грибы рода Candida

Посев на среду Сабура выдерживали при 22-25° С не менее 5 суток. На следующий день просматривали сделанные накануне посева. При появлении роста на плотных питательных средах изучали выросшие колонии, проводили качественную и количественную оценку бактериального роста (единичные колонии, умеренный, обильный рост), выделяли чистую культуру предполагаемого возбудителя. Проводили дальнейшее изучение с целью идентификации.

От обследованных больных было выделено 258 штаммов различных микроорганизмов, что составляло 98,5%. При этом от 198 больных с ОГСО было выделено 196 (98,5%) и от 63 больных с ХГСО 60 (95,2%) штаммов.

Из числа выделенных культур при ОГСО и ХГСО 29 штамма оказались атипичными, так как биохимические, антигенные свойства этих культур отличались от основных свойств стандартных бактерий кишечной и других групп микроорганизмов.

Все выделенные атипичные штаммы проявляли устойчивость одновременно к нескольким антибиотикам и у них был изменен ряд культурально-биологические свойства. Так, изменился характер роста на питательных средах, отмечалась замедленность роста с вращением в толщу питательной среды и микробная масса с трудом снималась с поверхности среды и плохо эмульгировалась в физиологическом растворе.

Морфология культур была гетероморфна: у 19 штаммов в окрашенном препарате находились клетки в виде крупных и мелких шаровидных форм, диаметром 6,0-8,0 мкм и 0,2 - 0,4 мкм соответственно.

Из указанных 15 культур 7 штаммов росли в аэробных условиях желточно-солевой среде (ЖСА), образуя колонии диаметром 6-10 мм. На рассеянном свете колонии окрашивались в слабо золотисто-желтый цвет. В окрашенном препарате обнаружили крупные, грамположительные шаровидные клетки (протопласты, сферопласты), диаметром 6,0-8,0 мкм.

При изучении некоторых биологических свойств установили, что они не расщепляли углеводы, не восстанавливали нитраты в нитриты, не разжижали желатин и плазму крови. Все культуры были антибиотико-устойчивыми.

С учетом возможной устойчивости бактерии под воздействием различных факторов в том числе антибиотиков, мы проводили неоднократный (29) пассаж этих культур на молочно-солевом, желточно - солевом, мясопептонном, кровяном и сывороточном средах. При каждом пассаже изучали морфологию и другие свойства культур.

Через 10 пассажей заметили некоторые изменения в морфологии клеток. Появились отдельные клетки с меньшими размерами в диаметре. Через 20 пассажей диаметр колонии уменьшался до 5-7 мм, а размеры клеток уменьшались до 3,0-5,0 мкм в диаметре. Колонии стали окрашиваться более заметно в золотисто-желтый цвет.

Культуры слабо расщепляли углеводов. Через 27 пассажей культуры (кроме двух штамма) полностью реверсировали в исходное положение.

У реверсированных культур восстановилась культурально-биологические свойства: росли на солевых средах в аэробных условиях, при 37°C образовывали колонии диаметром 4-5 мм, с компактным центром и нежным валиком, легко снимающимися с поверхности среды.

На рассеянном свете колонии интенсивно окрашивались в золотисто желтый цвет. В окрашенном препарате находились грамположительные клетки сферической формы, диаметром 0,5-1,6 мкм, которые располагались одиночно и виде скопление в группах, неправильной форма, напоминающие виноградные грозди, неподвижные, спор не образовали. Культуры были каталаза положительными, но оксидаза отрицательными, содержали цитохром. Восстанавливали нитраты в нитриты. Коагулаза тест был положительным - на кровяной среде вокруг колонии образовали зону гемолиза.

Таким образом, на основании полученных данных изучения, 7 штаммов расценивались как *S. Aureus* из рода *Staphylococcus*.

У одной культуры видимо, возникла более глубокая изменчивость. Хотя в морфологии наблюдали клетки с уменьшенными размерами в диаметре (4-5 мкм), но оставшимися каталаза и коагулаза отрицательными. У других штаммов при росте на МПА и солевых средах при 37° в аэробных и анаэробных условиях диаметр колонии составлял 7-8 мм и были шероховатыми, бесцветными с большим трудом снимались с поверхности среды. В окрашенном препарате обнаруживали грамположительные шаровидные формы клетки, диаметром 6-7 мкм. расположенные одиночно, попарно или в группах. Это культура при пассаже на

МПА и солевых средах даже через 25 пассажей не меняло свои культуральные и биологические свойство, и мы не могли его отнести, к какому-либо виду культуры.

Среди изученных 29 культур 7 штаммы росли на сывороточной и кровяной среде как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Колонии были крупного размера, сухие, вросшие в толщу среды и с трудом снимались с поверхности среды. В окрашенном препарате находились крупные шары, как сферопласты диаметром 4,0-6,0 мкм, расположенные в парах короткими цепочками.

Через 25 пассажей на кровяной и сывороточной среде колонии этих культур стали нежными, влажными, легко снимались с поверхности среды. Культуры обладали В-гемолизином, так как в кровяной среде вокруг колонии образовали зону гемолиза. На среде Гисса расщепляли лактозу и салицин с образованием кислоты, образовали щелочную фосфатазу. На основании результатов изучения эти культуры расценивали как *S. pyogenes*.

Из числа выделенных 29 культур 6 штаммы культивировались на среде с добавлением NaCl (10,0) при 37<42°C. Колонии культур в размере 3-5мм были сухими, вросшими в толщу среды и с трудом снимались с поверхности среды. Пигмент не образовали. Были факультативными анаэробами.

Указанные 6 штаммы после 27 пассажей росли при аэробных условиях на среде в присутствии NaCl (10 %) при 37°C, образуя не прозрачные, бесцветные колонии, диаметром 4-5мм, легко снимались с поверхности среды. В окрашенном препарате, приготовленных из колонии этих культур, клетки имели сферическую форму; диаметром 0,4-0,7мм расположенными группами. Были неподвижными, спор не образовывали. На основании полученных результатов культур расценивали как *S. epidermidis*.

На плотных питательных средах, на рассеянном свете колонии всех указанных 27 культур окрашивались в различные цвета (золотисто-желтые, белые), а некоторые были бесцветные. На кровяной среде вокруг колонии образовалась широкая зона гемолиза. Некоторые из этих культур свертывали молоко, разжижали свернутую сыворотку и желатин. Коагулаза тест был положительным у ряда культур (9).

На основании полученных результатов, изученные штаммы расценивались как *S. aureus* (9 штаммов), *S. epidermidis* (6 штаммов) и *Micrococcus* (4 штаммов), а одна культура не дифференцирована. У остальных 9 штаммов в препарате мазка наблюдали палочковидные и различного размера шаровидные формы.

При посеве на дифференциальные среды Гисса расщепляли только глюкозу с образованием кислоты без газа. В мазках окрашивались плохо. На МПА и среде Эндо росли с образованием шероховатый R-колонии. С агглютинирующий O-сывороткой типа *E. Coli* и *Enterobacter* не агглютинировались, индола и H₂S не образовали. К антибиотикам широкого спектра действия проявляли высокую устойчивость.

Мы также их пассировали на среде Эндо, Плоскирева, МПА и солевых средах. Постепенно рост культур стал более нежным; чем больше пассажей, тем легко колонии снимались с поверхности питательного агара. Культуры стали расщеплять кроме глюкозы и мальтозу, маннозу, лактозу и начали давать слабую

агглютинацию с положительными О-сыворотками E.Coli и Enterobacter. Через 25 пассажа культура полностью реверсировала в исходную форму.

Из 9 культур, 5 штаммов при росте на среде Эндо росли с образованием гладких S-колоний красного цвета с металлическим блеском, на среде Плоскирева образовывали бесцветные, гладкие S-колонии. Колонии легко снимались с поверхности среды, эмульгировались на физиологическом растворе, образовывали равномерную мутную взвесь. Агглютинировались с положительной сывороткой E.Coli серовар О-111. На среде Гисса росли с образованием кислоты и газа. На МПБ росли с образованием равномерного помутнения, продуцировали индол и сероводород. На лакмусовом молоке цвет порозовел, а молоко коагулировалось. Желатин не разжижали, на цитратной среде не росли. В мазках обнаружили грамотрицательные палочки с округленными концами, среднего размера (0,3-0,6 мкм в ширину, 0,8-1,4 мкм в длину приблизительно).

Анализируя полученные данные и сопоставляя с таблицей с результатами культуральных свойств стандартной штамма E.Coli наши изученные 7 культуры, мы расценивали E.Coli серовар О-111, относящиеся к роду Enterobacteriaceae.

Из остальных 4 штаммах у 2-х при росте на МПА обнаружили слизистый колоний в виде налета, среда и колонии окрашивались в синезелённый цвет, рост происходил в диапазоне от 38°C до 41°C. В висячих и раздавленных каплях бактериальные клетки были подвижными. В мазках - палочки с округленными концами окрашенные грамотрицательно.

При окраске мазка по Гинс-Бурри обнаружили капсулу. На среде Гисса расщепляли углевод с образованием кислоты и газа. При посеве культуры на желатин уколом - разжижали желатин по ходу роста. Штаммы были оксидаза- и каталаза положительны. Давали агглютинацию на стекле со специфической сывороткой.

По результатам полученных данных эти 2 штаммы мы расценивали как P. aeruginosae.

Остальные 2 штамма хорошо стали расти на среде Эндо и МПА, образовывая гладкую S-колонию. У этих культур реакция Фогес - Проскуэро и результаты на среде Симмонса с цитратом были положительными.

Культуры медленно разжижали желатину, сероводород не образовали, углевод расщепляли с образованием кислоты и газа, в мазках окрашивались грамотрицательно. Эти культуры были расценены как Enterobacter.

Следует отметить, что в анамнезе, больные, у которых были выделены атипичные штаммы, до обращения к врачебной помощи самостоятельно, многократно и беспорядочно принимали антибиотики (пенициллин, ампициллин и др.). Видимо, в результате этого появились антибиотико-резистентные штаммы, с измененными биологическими свойствами, т.е. атипичные штаммы.

Таким образом, штаммы, с множественной лекарственной устойчивостью и измененными культурально биологическими свойствами, является потен-

циально опасными возбудителями при ОГСО и ХГСО, на что следует обращать внимания при диагностике и лечение больных.

С учетом вышеизложенного, каждый штамм, выделенная от больного с ГВЗ среднего уха с отклоненными морфологическими и биологическими свойствами должен быть тщательно изучен для установления правильного диагноза и проведение эффективного лечения.

Выводы

1. Установлено изменчивость различных бактерии, вызывающие ОГСО и ХГСО под воздействием различных факторов, в том числе и антибиотиков с образованием сферопластов, протопластов, Л-формы, у которых изменяется ряд биологические свойства (атипичные штаммы).

2. Отмечено, что при длительном пассаже в соответствующих питательных средах и нормальных для них условиях атипичные штаммы могут реверсироваться в исходную форму, с восстановлением все культурально-биологические свойства характерные для них.

3. Выявлено, что атипичные штаммы играют большой роль в хронизации МВЗ, так как, в измененной форме они могут длительно персистироваться в клетках организма и в удобных для них условиях они реверсируются в исходную форму и становиться причиной обострения процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Саркисов Д.С. Некоторые особенности взаимоотношений макро-микроорганизмов с общепатологической позицией // Проблемы туберкулеза. 2000. - С.3-6.
2. Страчунский Л.С., Богомольский А.Н. Антибактериальная терапия ОГСО у детей. // Детский доктор, -2000, -2, -С. 32-33. Тарасова Г.Д., Страчунский Л.С. Особенности микрофлоры глотки и функциональное состояние среднего уха у детей. // Вестник оториноларингологии. -2000. -С. 30-32.
3. Gosterton JW, Stevart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. // Scitct. 1999, 284. - P. 1318-1322.
4. Богомольский М.Р. Значение среднего отита для педиатрической практики и вопросы диагностики. //Международная конференция МАКМАХ "Антибактериальная терапия в педиатрической практике". Москва, 25-26 мая 1999 г. -Москва, 199. - С.89-90.
5. Бухарин О.В., Дерябин Д.Г. Экологическая детерминированность маркеров персистенции стафилококков. // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. -1997. -№ 4. -С. 60-63.
6. Козлов М.Я. Острые отиты у детей и их осложнения. -М: Медицина, 1986. -157 с.
- 7.Современные принципы лечения острого среднего, затянувшегося и рецидивирующего ОГСО. // РМЖ - 2002. -10, №20. - С. 903-909.
8. Лучшева Ю.В. Особенности современной микрофлоры при хроническом воспалении ЛОР органов <http://www.midafarm.ru/>
9. Лобзин Ю.В., Волжанин В.В., Захарченко С.А. Проблемы инфекции в современной медицине //Врач. -2004. -№2. -С.5-9.
10. Тарасова Г.Д., Страчунский Л.С. Особенности микрофлоры глотки и функциональное состояние среднего уха у детей. / Вестник оториноларингологии. -2000. -№ 4. - С.30-32.
11. Prince A.S, Biofilms, antimicrobial resistance and airway infection// N Engl. J Med. -2002, -347, -P. 1110-1111.

Поступила 09.11. 2020